

微生物利用学研究（研究室紹介）

著者	岡崎 渉
著者別名	Okazaki Wataru
雑誌名	生命科学
号	2009
ページ	111-114
発行年	2010-03-31
URL	http://id.nii.ac.jp/1060/00000103/

微生物利用学研究室

(第4研究室 岡崎 渉 教授)

Laboratory of Applied Microbiology

はじめに

当研究室では、微生物をいかに利用するかということを主テーマに、界面活性剤耐性菌を用いた化学物質の生分解及び環境浄化の研究、タンパク質(酵素)による界面活性剤の皮膚刺激性の評価に関する研究、化粧品などにおける「界面活性剤－防腐剤－微生物」の関連性、未利用資源あるいは産業廃棄物の再資源化等に関する研究を行っている。また、化粧品分野で多用される精油の微生物に対する生育阻害についても検討を続けている。

研究分野に関連する企業の技術者・研究者との意見交換、共同研究・受託研究を行っている。

研究内容

1. 界面活性剤水溶液中での微生物生育挙動に関する研究

化粧品、家庭用洗剤など界面活性剤を配合した製品では、微生物汚染対策が非常に重要な問題となっている。防腐剤が配合されているにもかかわらず、微生物が生育することがあり、そのメカニズムが解明されていない面も多く、「界面活性剤－防腐剤－微生物」の関係を検討している。

家庭用洗剤に配合されるアニオン界面活性剤3種、両性界面活性剤1種、ノニオン界面活性剤1種と大腸菌、枯草菌、界面活性剤由来菌3種を用いて、界面活性剤水溶液の抗菌性について検討を加えた。両性界面活性剤については、いずれの微生物に対しても抗菌性

を示した。また、抗菌剤としてパラベン、トリクロサン、イソプロピルメチルフェノールを界面活性剤水溶液に添加したときの抗菌効果についても試験した。アニオン界面活性剤に添加した場合、配合の効果が認められた。また、抗菌剤の配合量についても検討し、微生物の種類、起源によって異なる抗菌効果を示した。

界面活性剤を配合した製品は、複数の界面活性剤の組み合わせ、それ以外の原料も多数配合されている。基礎的な情報を得るため、2種類の構造の異なったものを混合し試験した。その結果、両性界面活性剤同士の混合系に抗菌力を認めた。また、菌種を広げて化学工場の活性汚泥より得られた微生物についても検討を加えた。

界面活性剤の官能基、アルキル鎖長などの違いによって抗菌力に差が生じるかについても検討している。(2009年度卒業研究 浦塚和朗、菅原裕美)

2. 界面活性剤の微生物分解に関する研究

前記1.の研究過程において化粧品中で生育できる微生物が得られた。これらは配合されている成分を資化している可能性もあることから、それらの性質を利用して、界面活性剤の微生物分解を検討している。また、工場排水など比較的濃度の高い領域での分解を出来るだけ短時間で行える新規微生物の探索も行っている。また、界面活性剤の官能基、アルキル鎖長、POE付加

モル数が微生物分解にどのような影響を及ぼすかについて検討を開始した。
(2010 年度修士論文 浦塚和朗)

3. 活性汚泥由来カタラーゼに関する研究

化学薬品製造会社から活性汚泥の提供を受けたので、それに含まれる微生物の単離および界面活性剤を始めとする化学物質についての分解性についても検討を加えている。これらの微生物には、高濃度の過酸化水素水を分解し、生存しているものも認められたので、その酵素についても生産性および性質について検討を開始した。非常に単純な培地で当該微生物が増殖し、カタラーゼを生産することが認められたので、工業的生産を視野に入れると非常に有用であると考えられる。工業的利用を考えたとき、微生物の細胞外に酵素を生産することが望ましいので、生産条件の検討を行ったが、あまり効果的な条件は得られなかったことから、菌体内酵素であると考えた。過酸化水素水と微生物を接触させたときの過酸化水素の減少速度についても検討を行っている。また、酵素の精製については、微生物を大量培養し、超音波破碎、硫酸塩析、イオン交換クロマトグラフィーにより行った結果、比較的簡単なステップで精製を行うことができた。保存方法（室温、冷蔵、冷凍）によって酵素の安定性がどのように変化するかを検討したところ、室温でもかなりの長期安定性が認められた。(2009 年度卒業研究、2010 年度修士論文 青木佑太)

4. 香粧品類の抗菌力試験における簡易化法の開発

1 つの製品を商品化するためには日本薬局方微生物試験法などの公定書に準じて試験を行う必要がある。また、試験菌株の種類や配合成分量など、何通りも調べるために試験時間が必要となる。したがって抗菌力試験の初期段階で抗菌性の有無強弱を予測することができれば、処方に対する改善点をフィードバックが可能となる。この問題を改善するために考案するのが簡易化法である。簡易化法とは、小型振とう培養装置（バイオフィトレコーダー）を用いて菌の生育曲線を求め、抗菌性を調べる方法である。本研究は現在用いられている香粧品類の抗菌力試験をより効率良く行うために簡易化法を開発し、その実用化を目指すことを目的とし、従来法と簡易化法の相関性を検討した。(2009 年度卒業研究 野地綾香、西潟真耶、2010 年度卒業研究 黒澤安美、2010 年度修士論文 野地綾香)

5. 精油の微生物生育阻害に関する研究

香辛料、天然精油には、古くから抗菌性、抗酸化性のあることが知られており、広く利用されている。これらの作用は、精油に含まれる特有の成分によるものと考えられている。

ヒトの生活する屋内などには多くの塵が存在し、その多くはヒト皮膚の角質層から剥がれ落ちた鱗屑で、ここに生息するブドウ球菌やアクネ菌などの微生物が拡散する温床になる。室内空気の浄化は、公衆衛生においても重要な研究課題である。筆者等は、香粧品あるいはトイレタリー製品に精油を配合し、その抗菌性により、皮膚あるいは生活空間を清潔に保つことに利用できるかについての基礎的な検討を行っ

ている。本研究では香料などの芳香で薫蒸することによる殺菌・静菌効果を期待し、それを検証(暴露方法、暴露濃度、暴露時間など)する方法について検討している。これまで研究してきた蒸気法ではシャーレ内の狭い空間に対して、精油から揮発する香りの量がかなり多いことから、精油から揮発した空間に存在する香りの濃度差をつけた簡易試験法の開発を試みており、有機合成に用いられるセパラブルフラスコを利用することにした。抗菌性については、寒天培地を用い、生育したコロニーの大きさから評価した。微生物の初発菌数の少ない領域では、効果を示すものも認められた。また、香料を添加した製品を考慮して、製品中での抗菌効果、製品からの香りの影響について検討している。

防腐剤を配合した乳化物中において抗菌効果が無いか、非常に低下することが知られている。一般的な防腐・抗菌剤は、水に対する溶解度がきわめて低いことから、1,8-シネオールを用いて、抗菌効果低下のシミュレーションを行っている。乳化物に1,8-シネオールが取り込まれたと仮定するとその揮発量が低下し、前述のセパラブルフラスコを用いた試験法が適用できないか検討している。(2010 年度卒業研究 四谷都子、村田弥佳)

6. タンパク質を用いた皮膚刺激性の評価に関する研究

人体に用いられる界面活性剤および防腐剤について、タンパク質の変性から皮膚刺激性を予測できるかどうか検討している。タンパク質としては、卵白アルブミン水溶液を用い、他の物質との接触による変性から評価している。

「タンパク変性を起こす → 微生物の生育阻害を起こす」という仮説を立てて、同じ溶液を用いて抗菌力試験を行っている。この仮説が実証されれば、抗菌性の強弱によって肌に対する影響を類推できるものと考えている。(2010 年度卒業研究 坂口尚也)

7. 花に生息する有用微生物の検索

花に生息し、香粧品類の原料として用いることのできる有用物質生産微生物の検索を行っている。約 100 種類の花から約 300 種の微生物を得た。グラム染色、顕微鏡観察、カタラーゼ試験・オキシダーゼ試験などの生理学的性質からどの種の微生物が多く得られているか、グルコースから酸への変換などを分類している。(企業との共同研究、2010 年度卒業論文 染谷卓)

8. ヘミセルロース含有未利用資源および廃棄物の再資源化

食品工業での廃棄物中には、ヘミセルロースやセルロースが多く含まれそのまま廃棄あるいは燃料として焼却されている場合が多い。これらの主成分である構成多糖を単糖・二糖へ効率よく変換・抽出できれば、アルコール発酵原料として利用できる。また、特定のヘミセルロースなどを中程度に加水分解し、化学的な修飾を加えることによって香粧品分野への原料としても利用できる。農林産資源にも未利用資源も多く、その有効利用にも活用できる。

マンナナーゼを生産する *Acinetobacter* 4 株を得て、その酵素生産条件、酵素の精製と性質、加水分解の様式の検討を行っている。これらの微生物の生産する酵素は、各種のヘミセルロースを含む材料を加水分解し、複数(マ

ンナナーゼ、キシラナーゼ、CMCase) の酵素を生産することがわかった。天然物に対する利用を検討している。

9. 外部機関との共同研究

パーマ処理、ブリーチ処理、染毛剤による処理をした場合の毛髪への損傷の程度を予測するために、プロテアーゼをそれぞれに作用させ、処理毛から溶出した成分の変化、毛髪のアミノ酸組成変化、電子顕微鏡による表面観察などにより検討している。

【原著論文】

1. Enzymatic Degradation of Keratin Films and Keratin Fibers Prepared from Human Hair. C. Yamauchi, W. Okazaki, T. Yoshida, and A. Karasawa *Biol. Pharm. Bull.*, 31, p994-997 (2008).

2. Enzymatic approach to analyze the effects of mercaptans on hair. C. Yamauchi, A. Mochizuki, K. Takayama, S. Suzuki, A. Sakaino, and W. Okazaki *J. Cosmet. Sci.*, 60, p527-535 (2009).

【その他】

1. 化粧品中の香気成分による防腐・殺菌効果 岡崎 渉 FRAGRANCE JOURNAL 2010(4) p51-54

2. 防腐剤・キレート剤などの配合における留意点 岡崎 渉 COSMETIC STAGE 4(7) p44-50 (2010)

【学会発表】

1. 過酸化水素耐性菌由来カタラーゼの精製とバイオセンサへの利用
松浦宇宏、酒井美鈴、戸部文絵、一石

昭彦、岡崎 渉、大熊廣一 日本農芸化学会 2009 年度大会 平成 21 年 3 月 27 日～3 月 29 日 (福岡)